

Aus der Hals-Nasen-Ohren-Klinik im Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Komm. Direktor: Professor Dr. med. Klaus Walter Hommerich
und aus der Hals-Nasen-Ohren-Abteilung im Städtischen
Wenckebach-Krankenhaus Berlin-Tempelhof
Chefarzt: Dr. med. Heinrich Kaller

Über die experimentelle Kryochirurgie am Rattenohr

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dietrich Schulz
aus Berlin

1972

Aus der Hals-Nasen-Ohren-Klinik im Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Komm. Direktor: Professor Dr. med. Klaus Walter Hommerich
und aus der Hals-Nasen-Ohren-Abteilung im Städtischen
Wenckebach-Krankenhaus Berlin-Tempelhof
Chefarzt: Dr. med. Heinrich Kalier

Über die experimentelle Kryochirurgie am Rattenohr

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Dietrich Schulz

aus Berlin

Referent: Priv.Dozent Dr.med. Claus-Frenz Claussen

Korreferent: Professor Dr.med. Dietrich Pellnitz



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 12. April 1972

Inhaltsübersicht

Titel: Über die experimentelle Kryochirurgie
am Rattenohr.

	Seite
A. Einleitung	2
B. Eigene Untersuchungen	3
I. Geräte	4
II. Tiere	4
III. Versuchsablauf	4
IV. Postmortale Behandlung der Ohrmuscheln	5
C. Ergebnisse	8
I. Makroskopische Beobachtungen	8
a) 1. Tag nach Kryochirurgie	10
b) 5. Tag nach Kryochirurgie	10
c) 7. Tag nach Kryochirurgie	11
d) 14. Tag nach Kryochirurgie	12
e) 28. Tag nach Kryochirurgie	12
II. Kontrolltiere	13
III. Mikroskopische Beobachtungen	14
a) 1. Tag nach Kryochirurgie	14
b) 5. Tag nach Kryochirurgie	15
c) 7. Tag nach Kryochirurgie	17
d) 14. Tag nach Kryochirurgie	18
e) 28. Tag nach Kryochirurgie	19
D. Diskussion	24
I. Kälteerzeuger	24
a) Kryochirurgie auf der Basis von phasenwechselnden Substanzen	24
b) Die Anwendung von phasenstabilen Kryosonden	25
II. Gewebsveränderungen nach Kryochirurgie	27
a) Makroskopisch	27
b) Mikroskopisch	31
E. Schlußbetrachtung	40
F. Zusammenfassung	41
G. Literaturverzeichnis	43

A. Einleitung

Biologische Strukturen erleiden unter der Einwirkung von Kälte einen Gefrierschaden, der auf zweierlei Wege entstehen soll: Erstens durch die Bildung von Eiskristallen, die die Zell- und Partikelgrenzen, also die Feinstrukturen der Zelle, zerschlagen; zweitens stellte LYNEN 1940 fest, daß Hefe nach dem Einfrieren in flüssiger Luft die Gärfähigkeit fast völlig einbüßt. In nachgehenden Studien fand er heraus, daß ein bernsteinsäureoxydierendes Enzymsystem irreversibel geschädigt war.

Im Gegensatz zur Hitze bietet der Kältebereich geringere Möglichkeiten der Temperaturveränderungen gegenüber dem lebenden Gewebe, wenn man bedenkt, daß der absolute Nullpunkt bei $-273,18^{\circ}$ C liegt. Im Vergleich zur Koagulation und etwa Verkohlung der lebenden Materie sind mit Kälte keine so radikalen Substanzveränderungen zu erzeugen.

Der Effekt der Kälteanwendung liegt im wesentlichen im Phasenwechsel vom flüssigen in den festen Materiezustand. Wie die Kältebiochemie für zahlreiche Enzymsysteme zeigt, ist nach dem Wiederauftauen nach dem Einfrieren in flüssiger Luft kein wesentlicher Aktivitätsverlust zu verzeichnen (SCHORMÜLLER). Effekte, die durch Enzymdestruktion oder weitgehende Suppression erreicht werden, fordern natürlich eine sehr tiefe Temperatur im lebenden Gewebe.

Wie aus Messungen von CLAUSSEN und SCHMIDT hervorgeht, besitzt das lebende Gewebe ein ausgeprägtes thermisches Isolierverhalten gegen umgebende tiefe Temperaturen. Selbst bei Einwirkung von Metallstäben, die in flüssigem Stickstoff auf -196° C gekühlt waren, konnten sie 1 bis 2 mm tief im Gewebe keine tieferen Temperaturen als -31° C erzielen. In diesem Temperaturbereich dürfte pathophysiologisch der gewebzerstörende Effekt durch die Bildung von Eiskristallen an erster Stelle stehen.

Heute ist bekannt, daß Kryochirurgie protrahiert in mehreren Sitzungen jeweils unter Anwendung von Kryozyklen betrieben werden muß, Nach CLAUSSEN bedeutet ein Kryozyklus die Zeitdauer von einer völlig aufgetauten Gewebsoberfläche über das Aufsetzen der Kryosonde auf das Gewebe, über die nachklingende Gewebsvereisung nach dem Abheben der Kryosonde bis zum völligen Wiederauftauen des Gewebes.

In dieser Definition ist enthalten, daß das Gewebe aus seinem mehr solhaften flüssigen Zustand während des Kryozyklus in eine andere Phase, nämlich die eishaft feste Phase, über- und zurückwechselt. Innerhalb eines Kryozyklus durchläuft das Gewebe also zwei Phasensprünge: erstens = flüssig-fest, zweitens = fest-flüssig. Dabei kommen die oben beschriebenen Kräfte der Kristallisation im Gewebe zum Tragen. Die Denaturierung des Gewebes ist geringer als bei entsprechender Hitzeanwendung.

Von CLAUSSEN, LENZ und anderen Autoren wurde das Verhalten verschiedener Gewebe unter kryochirurgischer Behandlung studiert. Das Anliegen dieser Arbeit ist es, tierexperimentelle Aufschlüsse über die Veränderungen amelastischen Knorpel, einem wichtigen Stützgewebe im Hals-Nasen-Ohren-Bereich, nach kryochirurgischer Behandlung zu gewinnen.

Unsere Versuche wurden an den experimentell leicht zugänglichen Ohren der weißen Ratte durchgeführt.

B. Eigene Untersuchungen

I. Geräte

Die massive Messing-Kryosonde von 6 mm Durchmesser und 10 cm Länge in einem Isoliergriff aus Plexiglas dient bei allen Versuchen als Kryoinstrument (Abb.1).

Als Kühlmittel verwenden wir flüssigen Stickstoff in einem 5-Liter-Dewargefäß (Abb.2).

Zur Kühlung wird die Sonde zwischenzeitlich bis zum nächsten Versuch in das Dewargefäß eingehängt.

Die Temperatur der Sonde läßt sich dadurch abschätzen, daß nach anfänglichem Aufsteigen von Blasen schließlich eine große Blasenwolke am sog. "burn-out-Punkt" aufsteigt. Dieser Punkt liegt in unmittelbarer Nähe des Siedepunktes des flüssigen Stickstoffes bei ca. -196° C. Entsprechend dieser Erfahrungswerte kann als gesichert angenommen werden, daß die Sonde beim Herausziehen aus dem flüssigen Stickstoff in jedem unserer Versuche eine Temperatur von -196° C aufweist. Bezüglich des Aufwärmverhaltens der Sonde in Luft und auf dem Gewebe verweisen wir auf die vorher zitierte Arbeit von CLAUSSEN und SCHMIDT.

Direkt nach dem Herausziehen aus dem Stickstofftank wird die Sonde für 30 Sekunden auf das Gewebe aufgesetzt.

II. Tiere

Als Versuchstiere verwenden wir 30 weiße Rattenböcke vom Stamme Wistar. Die Tiere sind durchschnittlich drei Monate alt, mit einem Durchschnittsgewicht von 240 Gramm. Das Versuchsobjekt ist jeweils die rechte Ohrmuschel der Ratten. Die Tierhaltung erfolgt in Einzelkäfigen, um Laesionen an den präparierten Ohren zu vermeiden.

III. Versuchsablauf

Die Narkose der Tiere besteht in Aetherinsufflation. Nach Lagerung der Ratte wird das Fell auf der Rückseite der rechten Ohrmuschel bis auf das Perichondrium so abpräpariert, daß es nach Anklammerung nicht von der Kryosonde berührt werden kann. Die auf -196° C abgekühlte Sonde wird aus dem Stickstoff herausgenommen und 30 Sekunden lang auf das Perichondrium aufgesetzt (Abb.3).

Nach dem Abheben der Sonde bleibt im Gewebe ein Eisscheibchen zurück (Abb.4).

Der Wundverschluß erfolgt durch Hautnaht mittels Mersilene 4 x 0.

Bei 5 Kontrolltieren führen wir nur die Präparation der Ohrmuschel ohne Kryobehandlung durch.

Die 25 eigentlichen Versuchstiere werden in 5 Klassen aufgeteilt. Die erste Tierklasse à 5 Tiere erhält nur einen Kryozyklus auf den freipräparierten Knorpel der rechten Ohrmuschel. Die zweite Tierklasse 2, die dritte Tierklasse 3, die vierte Tierklasse 4, und die fünfte Tierklasse 5 Kryozyklen. Diese Kryozyklen werden während einer einzigen Sitzung verabfolgt. Der Kryozyklus beinhaltet, daß nach dem Aufsetzen der Kryosonden während 30 sek die Zeit bis zum völligen Wiederauftauen des Gewebes abgewartet wird. Während derselben Sitzung folgt u.U. danach der nächste Kryozyklus.

Hinsichtlich der Überlebenszeiten wählten wir ein annähernd geometrisch abgestuftes Beobachtungsschema von einem, fünf, sieben, vierzehn und achtundzwanzig Tagen aus. Das Kollektiv der Tiere gliedert sich somit in fünf Klassen hinsichtlich der Überlebenszeiten auf. Jeder Klasse gehören wiederum 5 Tiere an, nämlich jeweils ein Tier mit Behandlung durch einen, zwei, drei, vier und fünf Kryozyklen.

Nach dem Ablauf der gesetzten Frist werden die Tiere in Äthernarkose getötet und sowohl den kryobehandelten als auch den Kontrolltieren die Ohrmuscheln abgetrennt.

IV. Postmortale Behandlung der Ohrmuscheln

Unmittelbar nach dem Abtrennen werden die Ohrmuscheln in 5 % Formalinlösung fixiert. Nach der Fixierung erfolgt die zusammenfassende makroskopische Inspektion aller Präparate. Anschließend werden die Präparate in Paraffin gebettet, geschnitten und mit Hämatoxylin-Eosin bzw. VAN GIESON gefüllt.

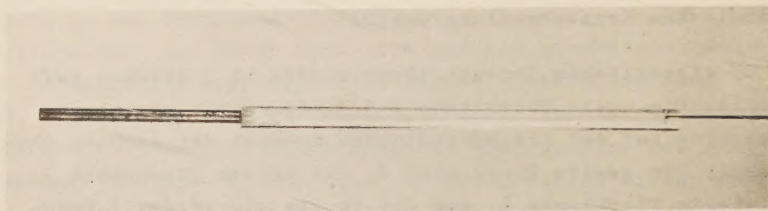


Abb.1

Kryoinstrument. Die 100 mm lange und 6 mm dicke
Messingmassivsonde.

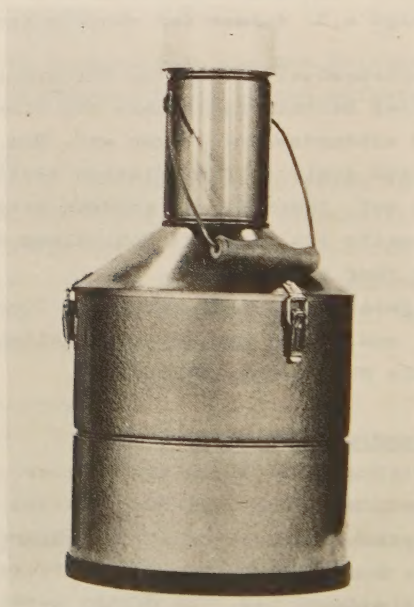


Abb.2

Dewargefäß zur Aufbewahrung des flüssigen Stickstoffs.

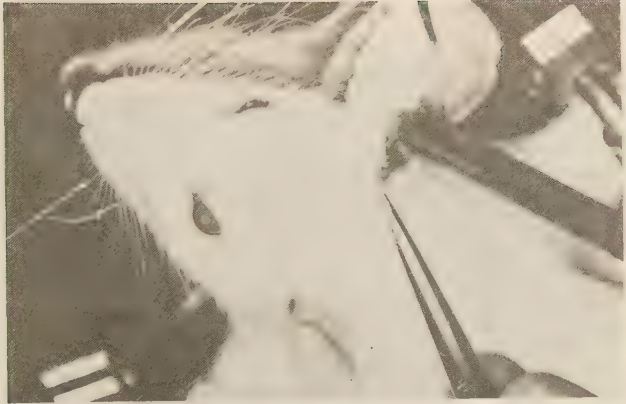


Abb. 3

Wistarratte mit präparierter Dorsalseite der rechten Ohrmuschel und aufgesetzter Kryosonde.



Abb. 4

Eisscheibchen im Bereich der Gefrierzone auf der freipräparierten Ohrmuschel nach dem Abheben der Kryosonde.

C. Ergebnisse

I. Makroskopische Beobachtungen:

Die fixierten Ohrmuscheln werden in aufsteigender Reihe nach Überlebenszeiten und Anzahl der applizierten Kryozyklen in einem fotografischen Schema so angeordnet (Abb.5), daß eine Matrix mit 5 Spalten und 5 Zeilen, also eine Determinante entsteht. Die Spaltengliederung erfolgt entsprechend den angewendeten Kryozyklen von eins bis fünf, und die Zeilengliederung entsprechend den Überlebenszeiten von 1, 5, 7, 14 und 28 Tagen.

Verfolgt man in dieser Anordnung die Anzahl der Kryozyklen, die von links nach rechts zunimmt und die Überlebenszeit, die von oben nach unten zunimmt, so kann folgendes festgestellt werden: Der geringste makroskopisch sichtbare Gewebeverlust ist nach Applikation von ein bis zwei Kryozyklen, der größte hingegen nach Applikation von vier bis fünf Kryozyklen mit deutlicher Deformität der Ohrmuscheln mit Größenreduzierung zu erkennen.

Im folgenden sind die einzelnen makroskopischen Veränderungen nach Tagen und Kryozyklen gegliedert aufgeführt.

Ein kurzes Protokoll für jeden einzelnen Fall ist beigelegt.

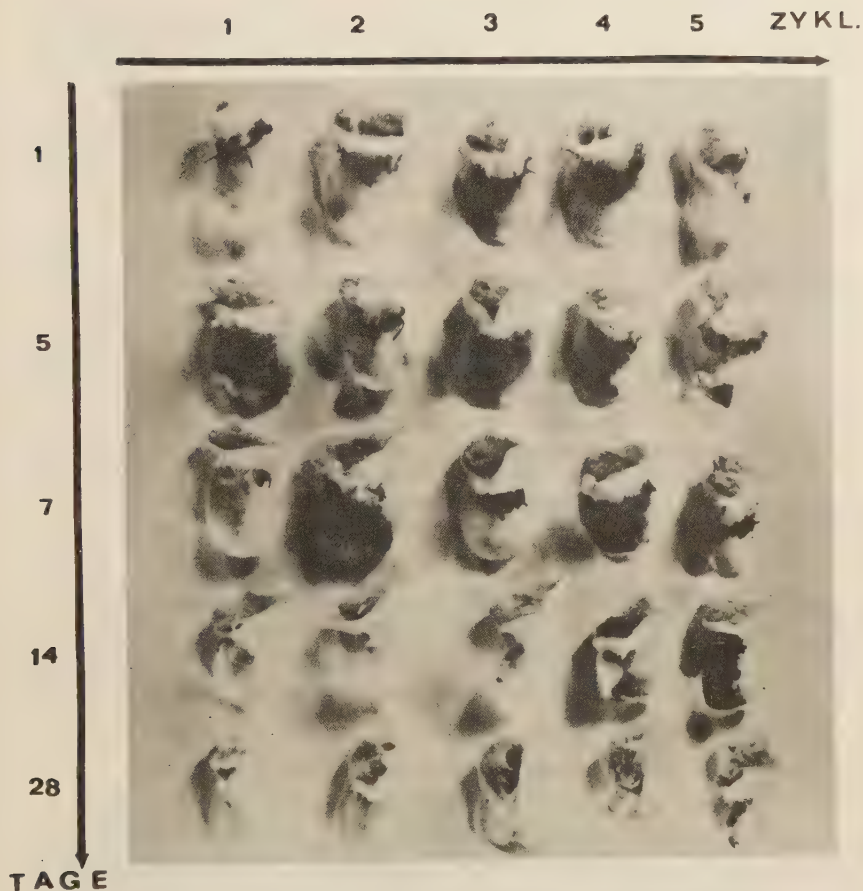


Abb. 5

Excidierte Rattenohren in Matrixanordnung.
In Zeilenrichtung nach zunehmender Kryozyklenzahl und in
Spaltenrichtung nach zunehmender Überlebenszeit geordnet.

Ia. 1. Tag nach Kryochirurgie

Einen Tag nach Kryochirurgie zeigt sich bei der Applikation von 1 bis 5 Kryozyklen ein unterschiedliches Ausmaß der oberflächlichen Gewebeveränderungen. Bei der Applikation nur eines Kryozyklus kommt es zu einer geringgradigen Imbibition, die jedoch mit Zunahme der Kryozyklen annähernd kontinuierlich ansteigt. Letzteres ist besonders nach der Applikation von 3 und 4 Kryozyklen in dem Matrixschema zu sehen.

Inspektionsprotokoll 1. Tag nach Kryochirurgie:

Ohrmuschel mit einem Kryozyklus: Schnittbereich sauber. Die Naht liegt reizlos. Das Gewebe ist im Kryobereich blutig imbibiert.

Ohrmuschel mit zwei Kryozyklen: Entsprechend den Befunden nach einem Kryozyklus (s.o.).

Ohrmuschel mit drei Kryozyklen: Schnittbereich sauber. Das Ohr ist im ganzen verdickt. Naht liegt reizlos.

Ohrmuschel mit vier Kryozyklen: Zentralgelegene 6 mm lange und 4 mm breite oberflächliche Nekrose. Es besteht ein streifenförmiges Haematom zum Ohrrand hin. Innenhaut verdickt und aufgelockert.

Ohrmuschel mit fünf Kryozyklen: Der Schnittbereich ist deutlich verdickt. Hier besteht auch eine 13 mm lange und 4 mm breite Nekrose. Es besteht ein streifenförmiges Haematom zum Ohrrand hin. Das Ohr ist stark verdickt, das Cavum conchae blutig imbibiert, und das Epithel aufgelockert.

Ib. 5. Tag nach Kryochirurgie

Die Ohrmuschel mit Applikation von nur einem Kryozyklus zeigt eine relativ große flächenförmige Nekrose. Das Ausmaß dieser Nekrose scheint makroskopisch mit derjenigen von 3 und 4 Kryozyklen annähernd übereinzustimmen. Allen gemeinsam ist mit ansteigender Kryozyklenzahl die zunehmende Dicke des Präparates, die starke haemorrhagische Durchsetzung mit Nekrose des Randbereiches und die Ulcusbildung im Cavum conchae.

Inspektionsprotokoll 5. Tag nach Kryochirurgie:

Ohrmuschel mit einem Kryozyklus: Die Wundnaht liegt reizlos. Der zentrale Ohrknorpelbereich ist allseits verdickt. Die Ohrmuschel ist haemorrhagisch durchsetzt. Im Cavum conchae besteht ein Ulcus von 4 mm Durchmesser.

Ohrmuschel mit zwei Kryozyklen: Die Weichteile und der Ohrknorpel sind stark verdickt. Die oberflächliche Randnekrose beträgt 4 mm. Das Ulcus im Cavum conchae hat einen Durchmesser von 5 mm.

Ohrmuschel mit drei Kryozyklen: Der Ohrknorpel und die Weichteile sind stark verdickt. Im Cavum conchae beträgt der Ulcusdurchmesser 6 mm. Vom Schnitt nach distal ist die Haut haemorrhagisch durchsetzt. Die Randnekrose hat eine Breite von 6 mm.

Ohrmuschel mit vier Kryozyklen: Die Weichteile und der Ohrknorpel sind stark verdickt. Es besteht eine oberflächliche, bogenförmige Randnekrose von 12 mm Länge und 6 mm Breite. Das Ulcus im Cavum conchae hat einen Durchmesser von 7 mm.

Ohrmuschel mit fünf Kryozyklen: Die Ohrmuschelbasis ist mehrfach verdickt. Zur Peripherie beginnt bereits die Demarkierung des nekrotischen Bereiches.

Ic. 7. Tag nach Kryochirurgie

Die Ohrmuschel zeigt nach einem Kryozyklus lediglich eine stecknadelkopfgroße Nekrose im Bereich der Muschelbasis. Mit der Zunahme von Kryozyklen nehmen die Nekrosen deutlich zu. Insbesondere ist die Dickenzunahme beträchtlich. An der Ohrmuschel mit 5 Zyklen ist schon ein Substanzverlust eingetreten.

Inspektionsprotokoll 7. Tag nach Kryochirurgie:

Ohrmuschel mit einem Kryozyklus: Hautschnitt in gutem Heilungszustand. Ohrmuschelbasis stark verdickt. Die Ohrmuschel ist peripher gut ernährt. Im Cavum conchae besteht lediglich eine stecknadelkopfgroße Nekrose.

Ohrmuschel mit zwei Kryozyklen: Die ganze Ohrmuschel ist stark verdickt. Es besteht ein Ohrmuscheleinriß etwa von der Mitte bis zur Spitze. Von außen ist eine 12 mm breite, nach innen auf 6 mm sich verjüngende Nekrose sichtbar.

Ohrmuschel mit drei Kryozyklen: Die ganze Ohrmuschel ist stark verdickt. An der Oberfläche erkennt man eine trockene Nekrose über die ganze Breite der Ohrmuschel, die sich zur Peripherie hin nur gering verjüngt. Der Gehörgang ist völlig verlegt.

Ohrmuschel mit vier Kryozyklen: Die ganze Ohrmuschel ist verdickt. Im Schnittbereich besteht eine 4 mm breite Nekrose, die im Cavum conchae einen Durchmesser von 5 mm aufweist.

Ohrmuschel mit fünf Kryozyklen: Die ganze Ohrmuschel ist stark verdickt. Von der Mitte des Schnittes besteht spitzwärts ein Ohrmuscheleinriß. Der äußere Rand ist eingerollt und zeigt im Schnittbereich eine 4 bis 6 mm breite Randnekrose.

Id. 14. Tag nach Kryochirurgie

Während an den Ohrmuscheln mit einem und zwei Kryozyklen die Schnitte schon verheilt sind und im Kryobereich narbige Verziehungen bestehen, sind die Kryonekrosen an den Ohren mit 3, 4 und 5 Zyklen noch deutlich sichtbar.

Inspektionsprotokoll 14. Tag nach Kryochirurgie:

Ohrmuschel mit einem Kryozyklus: Die Ohrmuschel ist verdickt. Es besteht ein 5 mm tiefer und 3 mm breiter Muscheleinriß, dessen Ränder verheilt sind. Die Peripherie ist normal durchblutet.

Ohrmuschel mit zwei Kryozyklen: Die Ohrmuschel ist verdickt. Die Oberfläche ist im Basisbereich durch narbige Einziehungen verworfen. Innen besteht ein kleines Ulcus von 2 mm Durchmesser. Im übrigen Bereich ist die Ohrmuschel gut ernährt.

Ohrmuschel mit drei Kryozyklen: Die Ohrmuschel ist beträchtlich verdickt. An der Außenseite besteht ein keilförmiger Gewebedefekt, dessen Ränder fast verheilt sind. Die übrigen Partien sind gut ernährt.

Ohrmuschel mit vier Kryozyklen: Die ganze Ohrmuschel ist verdickt und wellig verformt. Von der Mitte dehnt sich spitzwärts eine Nekrose aus, die dort schon einen Defekt aufweist. Die Randzone ist auffallend verdickt.

Ohrmuschel mit fünf Kryozyklen: Das ganze Ohr ist verdickt. Es weist lateral eine halbseitige Nekrose auf, die unmittelbar vor der Demarkierung steht.

Ie. 28. Tag nach Kryochirurgie

Die Wundheilung ist an den Ohren mit einem und zwei Kryozyklen abgeschlossen. An dem Ohr mit drei Kryozyklen besteht im Spitzenbereich noch ein keilförmiger nekrotischer Bezirk. An den Ohren mit vier und fünf Kryozyklen hat sich der Nekrosebereich demarkiert. An beiden Ohren ging etwa die Hälfte

verloren. Die Stümpfe sind verdickt und verkrüppelt.

Inspektionsprotokoll 28. Tag nach Kryochirurgie:

Ohrmuschel mit einem Kryozyklus: Das Ohr ist leicht verdickt. Im zentralen Kryobereich ist das Ohr wellig und verzogen. Die übrigen Abschnitte erscheinen normal.

Ohrmuschel mit zwei Kryozyklen: Im Schnittbereich besteht eine wellenförmige Erhabenheit mit reizlosen deckenden Weichteilen. Am lateralen Rande ist ein Substanzverlust sauber abgeheilt.

Ohrmuschel mit drei Kryozyklen: Durch wellige Verwerfung der Ohrmuschel wirkt sie verkrüppelt. Die sichtbaren Defekte sind verheilt. Im Spitzenbereich steht ein keilförmiger nekrotischer Bezirk vor der Demarkation.

Ohrmuschel mit vier Kryozyklen: Das halbe Ohr ist demarkiert und abgestoßen. Der Ohrmuschelstumpf ist verkrüppelt. Es besteht noch eine Gewebsunruhe an den Rändern.

Ohrmuschel mit fünf Kryozyklen: Es restiert von der Ohrmuschel ein verkrüppelter Stumpf. An den Rändern ist die Wundheilung noch nicht abgeschlossen.

II. Kontrolltiere

Bei den fünf Kontrolltieren kommt es jeweils zu einer primären Heilung der vernähten Präparationsstelle. Eine Ohrmuschelverkleinerung kann in keinem Falle festgestellt werden (Abb.6).

Heilverlauf nach Praeparation am Rattenohr
ohne Applikation von Kryozyklen.



Abb.6

1.Tag

5.Tag

7.Tag

14.Tag

28.Tag

III. Mikroskopische Beobachtungen:

Die kryochirurgisch behandelten Ohrmuscheln werden nach Fixierung in 5 % Formalinlösung und Paraffineinbettung in durchschnittlich 20 Stufen geschnitten und mit Hämatoxylin-Eosin und nach VAN GIESON gefärbt.

In gleicher Weise wie die makroskopischen Beobachtungen werden die mikroskopischen nach den Überlebensstagen und der Anzahl der angewendeten Kryozyklen geordnet.

Ein kurzes Protokoll über jeden einzelnen Fall findet sich im Anschluß an die Übersichtsdarstellung des betreffenden Überlebensintervalles.

IIIa. 1. Tag nach Kryochirurgie

Im Bereich des Gefrierprozesses kommt es nach einem Tag mit steigender Zyklenzahl zur ödematösen Auflockerung (Durchtränkung) des Gewebes mit einer bereits recht weitgehenden Desintegration der Struktur des Binde- und Epithelgewebes und der Muskulatur. Die Wände der Kapillaren und die größeren Gefäße sind stellenweise noch gut erhalten. Der multiloculäre Blutaustritt entspricht im Zentrum einer Sickerblutung aus partiell oder total rupturierten Kapillaren und im Randgebiet des Kältekerns einer Blutung per diapedesin. Der Austritt von Leukozyten in das geschädigte Gebiet hält sich in engen Grenzen. Die Breitenwirkung geht am Ohr mit der Entwicklung der Eiszone parallel. Erst ab viertem Kryozyklus werden im Zentrum spärliche Veränderungen am Perichondrium bei unveränderter Knorpelstruktur manifest.

Histologische Befundprotokolle, 1. Tag nach Kryochirurgie:

Ohrmuschel mit einem Kryozyklus: Es besteht ein stark ausgeprägtes Ödem im Bereich der Muskulatur und des Stromas (Abb.7) mit zelliger Infiltration, Koagulationsnekrose der Muskulatur, des Stromas sowie des Epithels. Dieses weist stellenweise Defekte auf.

Intravasale Hyperaemie und Thromben, die teilweise oder vollständig das Gefäßlumen verlegen.

Stellenweise multiple Blutungen in die schollig-zerfallene Muskulatur und das Stroma.

Die wabige Knorpelstruktur ist noch völlig erhalten und intakt.

Das Perichondrium ist aufgelockert.

Ohrmuschel mit zwei Kryozyklen: Im Bereich der gesamten Kryolaesion ist ein starkes Ödem mit zelliger Infiltration entstanden. Ebenfalls sind Koagulationsnekrosen der Muskulatur, des Stromas sowie des Epithels sichtbar. Stellenweise sind sogar Epitheldefekte erkennbar.

Intravasale Hyperaemie und Thrombenbildung.

Die Knorpelstruktur ist völlig erhalten. Das Perichondrium ist jedoch stark aufgelockert.

Ohrmuschel mit drei Kryozyklen: Im Bereich der Kryolaesion ist ein starkes Ödem mit einer ausgeprägten zelligen Infiltration zu erkennen. Es bestehen Koagulationsnekrosen des Stromas, der Muskulatur sowie des Epithels zu beiden Seiten des Knorpels.

Auch ist eine intravasale Thrombenbildung sichtbar.

Blutung im Bereich der Kryolaesion.

Der Knorpel ist gut blau anfärbbar und erscheint somit vital. An einigen Stellen der Knorpelstruktur ist das Perichondrium nicht mehr zu erkennen, da die homogenen Nekrosen bis an die Knorpelstruktur reichen. Im Bereich des Perichondriums sind an einigen Stellen Kerntrümmern vorhanden.

Ohrmuschel mit vier Kryozyklen: Ausgeprägtes Ödem im Bereich der Muskulatur und des Stromas. Starke, zellige Infiltration. Scholliger Zerfall der Muskulatur mit Rundzellinfiltration. Blutung in die Muskulatur und das Stroma. Die Knorpelgrundstruktur ist völlig erhalten. Das Perichondrium hingegen erscheint verändert: und zwar ist es homogen und glasig und lässt nicht deutlich vitale Zellkerne erkennen. Wo der Knorpel zur Glandula Parotis hinaufreicht und wo nur die periphere Eiszone gewirkt haben kann, erscheint das Perichondrium völlig intakt.

Ohrmuschel mit fünf Kryozyklen: Kein Ödem im Präparat. Intakte Muskelzellen. Intaktes Perichondrium und intakter Knorpel. Es ist lediglich Blutung zu erkennen. Hier scheint beim Zugschnitt des Präparates nicht die Eiszone getroffen worden zu sein.

IIIb. 5. Tag nach Kryochirurgie

Am 5. Tag nach der Kälteschädigung ist das zentralgeschädigte Gebiet nekrotisch. Die granulocytäre und Rundzellinfiltration ist stark ausgeprägt. Die Abräumvorgänge sind in vollem Gange. Im nekrotischen Gebiet liegt reichlich verdichtetes Chromatinmaterial aus zugrundegegangenen Zellkernen.

Am Rande der Nekrose findet sich eine Proliferationszone, insbesondere von Fibroblasten. Die Kriterien der Haemostase haben sich verstärkt. Es bestehen Erythrocytensäulen bei allgemeiner Thrombosierung der Kapillaren und kleineren Gefäße. Das Höchstmaß an cellulär-entzündlicher Infiltration findet sich in den Randgebieten der Nekrose und dient zu deren Abgrenzung. Die Regeneration am Epithel setzt ein. Die Knorpelgrundsubstanz lockert sich auf. Die Knorpelzellen zeigen Vakuolisierung bis zum Niedergang. Mit steigender Kryozyklenzahl zeigt auch das Perichondrium degenerative Veränderungen. Die Knorpelgrundsubstanz büßt ihre Blaufärbung ein.

Histologische Befundprotokolle, 5. Tag nach Kryochirurgie:

Ohrmuschel mit einem Kryozyklus: Ödembildung im Bereich des Stromas und der Muskulatur mit einer starken, zelligen Infiltration. Die histiozytäre Reaktion steht im Vordergrund, so daß die pathologische Reaktion einen chronischen Charakter annimmt. Starke Gefäßsprossungen, Abbruch des stark verbreiterten Epithels mit Ulcusbildung; stellenweise erreicht die Nekrose des Stromas und der Muskulatur die Knorpelgrundstruktur. Hier erscheint sie aufgelockert, und die Knorpelzellen sind vakuolisiert. Ihre Anfärbbarkeit zum tiefen Blau ist herabgesetzt, so daß die Knorpelgrundsubstanz mehr rosa erscheint.

Ohrmuschel mit zwei Kryozyklen: Das Ödem besteht noch. Das beherrschende Bild ist die Nekrose, sowohl des Epithels als auch des Stromas sowie der Muskulatur. Zellige Infiltration und histiozytäre Reaktion. Die Epithelregeneration hat begonnen. Blutungen in die Nekrose hinein. Intravasale randständige Thromben in den Venen sowie Erythrocyten-Aggregation. Stellenweise ist die Knorpelgrundsubstanz rosa angefärbt; auch das Perichondrium ist nicht zu erkennen bzw. nekrotisch. Vakuolisierung des Knorpels.

Ohrmuschel mit drei Kryozyklen: Starke Nekrose der Muskulatur, des Stromas und des Epithels. Die zellige Infiltration und die histiozytäre Reaktion mit Kapillarsprossung reicht bis dicht an die Knorpelstruktur heran. Intravasale randständige Thromben und Erythrocyten-Aggregation. Die Knorpelzellen sind auffallend stark vakuolisiert. Stellenweise ist das Perichondrium nicht mehr vorhanden. Rosagefärbte Bezirke der Knorpelgrundsubstanz.

Ohrmuschel mit vier Kryozyklen: Weitere Steigerung der Schädigung. Die Nekrosen reichen bis an die Knorpelstruktur heran. Das Perichondrium ist stellenweis nicht mehr auszumachen. Der Knorpel erscheint verbreitert (aufgequollen). Vakuolisierung.

Die Kerne der Knorpelzellen sind verplumpt vergrößert, und Kerntrümmerzonen reichen bis an die optisch leere und deutlich rosagefärbte Grundstruktur heran.

Ohrmuschel mit fünf Kryozyklen: Nekrosen, die wiederum bis an die Knorpelgrundsubstanz heranreichen. Kapillarsprossen, zellige Infiltration. Histiozytäre Reaktion. Vakuolisierung des Knorpels. Hier scheint zum ersten Mal die Knorpelgrundsubstanz stellenweise aufgelockert und unterbrochen zu sein.

IIIc. 7. Tag nach Kryochirurgie

Am 7. Tag reichen die Nekrosen bis an die Knorpelgrundsubstanz heran. Die Zeichen der resorptiven Entzündung verstärken sich. Nekrotisches Gewebe wird abgestoßen. Das Perichondrium ist stellenweise nicht mehr zu erkennen. Die Knorpelgrundsubstanz nimmt in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung mehr roten Farbstoff auf. Homogene Nekrosen durchsetzen nach fünf Kryozyklen sogar das Knorpelgerüst. In den weniger geschädigten Randgebieten kommt es durch Chondrozytenaktivierung im Perichondrium, bis einschließlich des dritten Kryozyklus, zu appositionellem Wachstum.

Histologische Befundprotokolle, 7. Tag nach Kryochirurgie:

Ohrmuschel mit einem Kryozyklus: Das Ödem ist noch deutlich vorhanden. Intravasal gelegene hyaline Thromben. Allgemeine Zeichen einer regen resorptiven Entzündung. Das Epithel sproßt üppig. Nekrotisches Material wird abgestoßen. Im Zentrum der Schädigung wird der Knorpel nekrotisch. Dort ist auch kein Perichondrium mehr zu erkennen, und die Knorpelgrundsubstanz ist unterbrochen. Im weniger geschädigten Bereich (dort, wo die Eiszone ihre Grenze aufweist) ist appositionelles Wachstum von jungem Knorpel in Form von Chondrozyten und Chondroblastenteilungen zu sehen.

Ohrmuschel mit zwei Kryozyklen: Sprossung des Epithels. Nekrosen werden abgestoßen. Homogene Nekrosen und rundzellige Infiltrate reichen bis an das perichondriumfreie und stark rosa gefärbte Knorpelgerüst heran. Letzteres erscheint teilweise unterbrochen vakuolisiert. Im weniger geschädigten Gebiet besteht im Perichondrium eine rege Zellteilung.

Ohrmuschel mit drei Kryozyklen: Im wesentlichen wie nach 2 Kryozyklen; Riesenzellen, Epithelsprossungen beiderseits, starke homogene Nekrosen (Abb.8), die bis an das perichondriumfreie Knorpelgerüst heranreichen. Starke Rosafärbung, Vakuolisierung, und an einzelnen Stellen Unterbrechung der Knorpelstruktur.

Rundzellige Infiltrate in der homogenen Nekrose. Der Knorpel scheint hier im Zentrum der Schädigung nekrotisch zu sein, da er an einzelnen Stellen homogenglasig wirkt. Massenhaft Kapillarsprossungen und Fibrozyten. Stellenweise reicht fettige Degeneration bis an die noch vorhandene Knorpelstruktur heran. In den weniger geschädigten Gebieten besteht Apposition jungen Knorpels.

Ohrmuschel mit vier Kryozyklen: Das Granulationsgewebe reicht bis an den vom Perichondrium entblößten Knorpel heran. Kerntrümmerzonen an stellenweise nur noch spärlich vorhandenem Knorpelgerüst. Eine Knorpelnekrose wird demarkiert.

Ohrmuschel mit fünf Kryozyklen: Homogene Nekrosen, die bis in das Knorpelgerüst hineinragen, so daß keine perichondrale Zone mehr erkennbar ist. Auf der Gegenseite ist auch noch eine starke zellige Infiltration mit Fibrozytenbildung, die bis an das Knorpelgerüst heranreicht, zu erkennen. Fettige Degeneration.

IIIId. 14. Tag nach Kryochirurgie

Am 14. Tag besteht noch zellige Infiltration. Nach einem bis drei Kryozyklen zeigen die Umbauvorgänge mehr oder weniger das Bild einer jungen, noch nicht stabilisierten Narbe. Der nekrotische Knorpel ist von eingedrungenen Histiozyten durchsetzt und wird abgebaut. Nach vier und fünf Kryozyklen sind im Stroma noch die charakteristischen Elemente eines früheren Stadiums zu erkennen. Die Apposition jungen Knorpels ist auf allen Schnitten sichtbar; sie nimmt an Intensität mit steigender Kryozyklenzahl ab.

Histologische Befundprotokolle, 14. Tag nach Kryochirurgie:

Ohrmuschel mit einem Kryozyklus: Es besteht noch zellige Infiltration. Intravasal gelegene Thromben und Erythrocyten-Aggregation. Fettige Degeneration. Reste einer nekrotischen Knorpelspanne liegen in jungem Knorpelgewebe eingebettet (Abb.9). Kapillarsprossen werden weniger. Massenhaft histiozytäre Elemente. Homogene Nekrose mit zelliger Infiltration umgibt eine rosagefärbte, von Perichondrium entblößte Knorpelspanne. Im weniger geschädigten Knorpel besteht Vakuolisierung. Erstmals wird eine deutliche Apposition jungen Knorpels durch Chondrozytenteilung des Perichondriums sichtbar.

Ohrmuschel mit zwei Kryozyklen: Das Bild wird von jungem, noch nicht stabilisiertem, Narbengewebe bestimmt. Chondrozytenaktivität führt zur Apposition jungen Knorpelgewebes. In einigen Bezirken ist der nekrotische Knorpel mit eingedrungenen Histiozyten durchsetzt.

Ohrmuschel mit drei Kryozyklen: Fast gleicher Zustand wie vorher. Gut regeneriertes Epithel. An den Enden einer langen Knorpelspange geht deutliche Regeneration vom Perichondrium aus (Abb.10). Dagegen fehlt in der Mitte der Knorpelspange das Perichondrium, und die nekrotische Knorpelspange ist sowohl von fibrozytären und rundzelligen Elementen als auch von Nekrose umgeben.

Ohrmuschel mit vier Kryozyklen: Stellenweise besteht noch eine beträchtliche zellige Infiltration. Auch Nekrosen erinnern an ein früheres Stadium. Im Reaktionszentrum wird zerfallener Knorpel von Histiozyten abgebaut. Im Exsudat ist nekrotischer Knorpel von Leukozyten umgeben sichtbar. Peripher zeigt der Knorpel wabige Struktur und Vakuolisierung. Auch hier geht Regeneration vom Perichondrium aus (Abb.11).

Ohrmuschel mit fünf Kryozyklen: Entsprechend der schweren Schädigung besteht noch zellige Infiltration, und es sind noch Nekrosen vorhanden. Starke Fibrozyten-Einsprossung, allerdings nur wenige Kapillarsprossungen. Die vorhandene Knorpelstruktur ist weitgehend rosa angefärbt. In den Randpartien geht die Knorpelneubildung vom Perichondrium aus.

IIIe. 28. Tag nach Kryochirurgie

Am 28. Tag besteht nach einem und zwei Kryozyklen ein zellarmes, junges Narbenstadium. Das alte devitale Knorpelgerüst wird muffenförmig vom jungen, teils ausgereiften Knorpel umgeben. Nach drei bis fünf Kryozyklen sind im verbliebenen Gewebe die Nekrosen noch nicht restlos abgebaut, und es ist noch Granulationsgewebe erkennbar. Auch hier wird der devitale Altknorpel mantelförmig vom neuen Knorpel umgeben.

Ohrmuschel mit einem Kryozyklus: Es besteht ein reiferes Narbenstadium. Muffenförmige Knorpelneubildung (Abb.12) vom Perichondrium her am Übergang zum optisch leeren, alten Knorpelgerüst. Nekrosen des Stromas oder der Muskulatur fehlen. Es scheint, als ob das alte Knorpelgerüst liegenbleibt und von neuem Knorpel ummantelt wird.

Ohrmuschel mit zwei Kryozyklen: Es besteht ein zellarmes Narbenstadium. Nur noch vereinzelt sind Gefäßsprossungen erkennbar. Starkes Überwiegen von bindegewebigen Elementen (Fibro- und Histiozyten). Nekrotischer Knorpel liegt neben fast fertigem Knorpel, der junges Perichondrium aufweist. Der nekrotische Knorpel ist wiederum an der rosa Färbbarkeit und der Unterbrechung seiner Kontinuität erkennbar. Der Altknorpel verliert sich im Bindegewebe in Form von einzelnen Zellen. Er läuft förmlich aus (verliert sich in der Narbe).

Ohrmuschel mit drei Kryozyklen: Nur noch wenige Gefäßsprossungen. Stark fibrozytäre und histiozytäre Elemente charakterisieren ein junges Narbenstadium. Altknorpel mit fehlendem Perichondrium wird von neuem Knorpel ringförmig ummantelt (Abb.13), wobei jede Seite ebenso dick ist wie der übriggebliebene devitale Altknorpel. Dieser ist in seiner Struktur zwar noch vorhanden, zeigt aber die schon bekannte, deutliche rosa Anfärbbarkeit. Stellenweise wirkt der Altknorpel wie vom Neuknorpel abgeschnürt.

Ohrmuschel mit vier Kryozyklen: Es besteht im Vergleich zu vorher ein jüngeres Narbenstadium. Der erhaltene devitale Altknorpel liegt mit seiner deutlich heller angefärbten Gerüstsubstanz in neugebildetem Knorpel eingebettet und ist dadurch für Bindegewebszellen nicht erreichbar.

Ohrmuschel mit fünf Kryozyklen: Hier besteht noch jüngeres Narbengewebe, da noch reichlich Gefäßsprossen erkennbar sind. Rosa gefärbte Altknorpelspanne wird von Neuknorpel mantelförmig umgeben. Stellenweise bestehen noch Nekrosen im Stroma und in der Muskulatur.

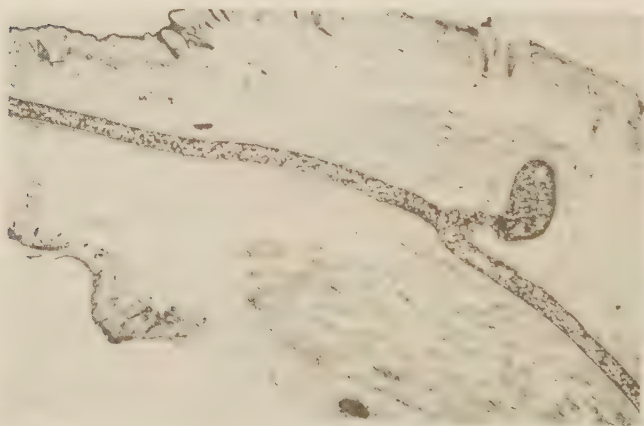


Abb.7

Rattenohr. Zustand nach einem Kryozyklus am ersten Überlebenstag. HE-Färbung. Vergr. 40 x.

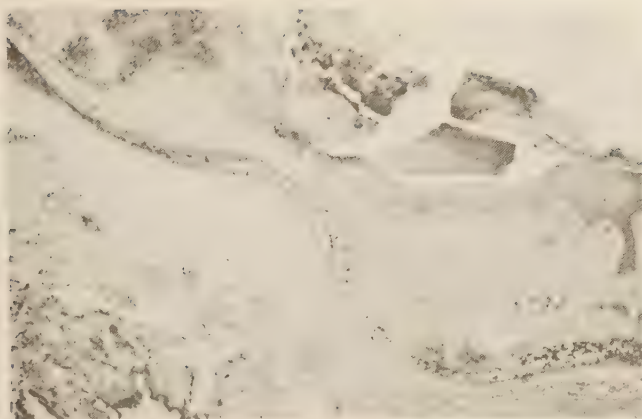


Abb. 8

Rattenohr. Zustand nach drei Kryozyklen am 7. Überlebens-
tag. HE-Färbung. Vergr. 40 x.

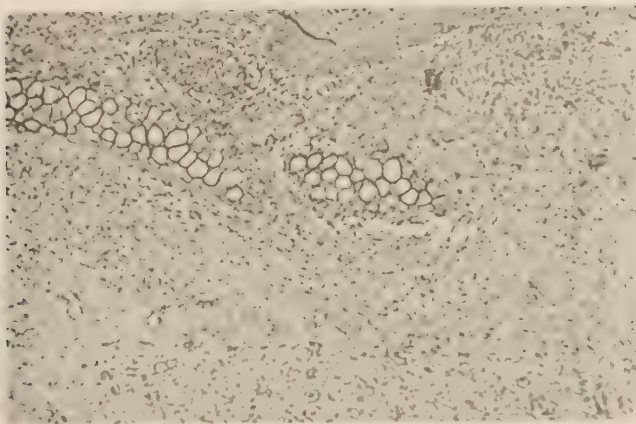


Abb. 9

Rattenohr. Zustand nach einem Kryozyklus am 14. Überlebens-
tag. HE-Färbung. Vergr. 150 x.

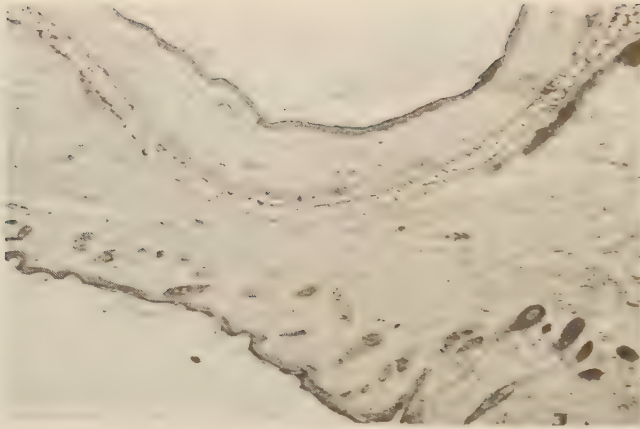


Abb. 10

Rattenohr. Zustand nach drei Kryozyklen am 14. Überlebens-
tag. HE-Färbung. Vergr. 40 x.

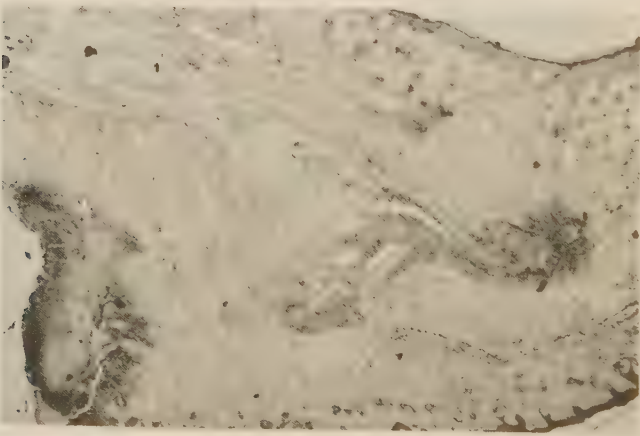


Abb. 11

Rattenohr. Zustand nach vier Kryozyklen am 14. Überlebens-
tag. HE-Färbung. Vergr. 40 x.

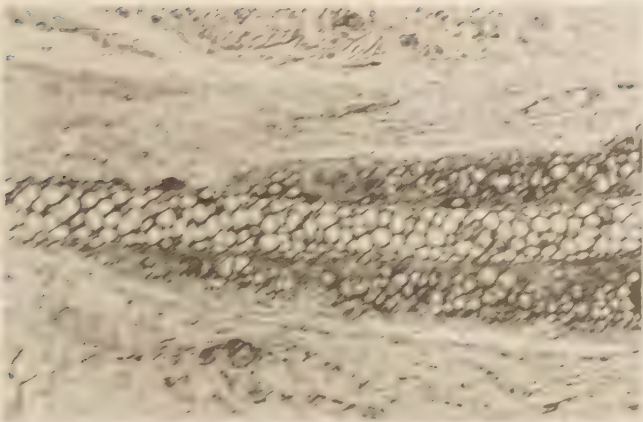


Abb. 12

Fettensaur. Zustand nach einem Kryozyklus am 28. Überlebens-
tag. HE-Färbung. Vergr. 150 x.

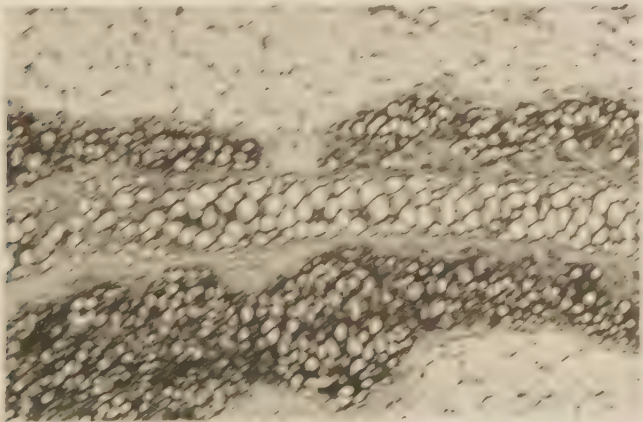


Abb. 13

Fettensaur. Zustand nach drei Kryozyklen am 28. Überlebens-
tag. HE-Färbung. Vergr. 150 x.

D. Diskussion

Die Kryochirurgie wird in neuerer Zeit zur Zerstörung von Gewebe verwendet (COOPER, VON LEDEN, MILLER, ZACARIAN, CAHAN, TORRE, TOWNSEND, GAGE, OSTERGARD, RAND, REUTER, SCHROTT, GOLDSTEIN, HANKINSIN, GONDER, DOGO, COLLIN, CLAUSSEN, LENZ).

Die verschiedenen Autoren bedienen sich zu diesem Zwecke unterschiedlicher apparativer Ausrüstungen, die im Grunde alle ein gemeinsames Ziel haben, nämlich ein mehr oder weniger gut definiertes Kaloriendefizit in das zu behandelnde Gewebe hineinzuleiten.

I. Kälteerzeuger

Ia, Kryochirurgie auf der Basis von phasenwechselnden Substanzen

Bei der Anwendung von phasenwechselnden Substanzen von fest zu gasförmig, wie etwa Kohlendioxyd-Schnee mit einem Sublimationspunkt von $-78,5^{\circ}\text{C}$ oder von flüssig zu gasförmig wie flüssiges Freon I mit einem Siedepunkt von -30°C oder flüssiges Freon II mit einem Siedepunkt von $-40,6^{\circ}\text{C}$, von Lachgas mit einem Siedepunkt von $-89,5^{\circ}\text{C}$, von flüssigem Sauerstoff mit einem Siedepunkt von -183°C , von flüssigem Argon mit einem Siedepunkt von $-185,7^{\circ}\text{C}$, von flüssigem Stickstoff mit einem Siedepunkt von $-195,8^{\circ}\text{C}$, von flüssigem Wasserstoff mit einem Siedepunkt von $-252,7^{\circ}\text{C}$ und flüssigem Helium mit einem Siedepunkt von $-268,9^{\circ}\text{C}$, kann man in direktem Kontakt mit dem Gewebe einmal den Kühleffekt über die Mischungswärme zwischen dem zugeführten Kryo-Mittel und dem behandelten Gewebe ausnutzen, zum anderen aber auch die durch das Verdampfen auftretende Kältewirkung nach dem sog. JOULE-THOMSON-Effekt.

(Bei adiabatischen Bedingungen beobachteten JOULE und THOMSON, daß alle Gase, mit Ausnahme von Wasserstoff, bei Ausdehnung zu einer Abkühlung führten. Die Größe des Temperaturabfalles hängt von der Ausgangstemperatur und dem Druck des Gases ab. Dieser Effekt wurde auch von LINDE zur Herstellung der Linde-Luftverflüssigung verwendet.)

Die gebräuchliche COOPER-Kryosonde nutzt dieses Prinzip aus, indem flüssiger Stickstoff durch eine Kapillare in eine silberne Hohlkugel eingepreßt wird, aus der die entstehenden Stickstoffgase mittels einer Vakuumpumpe schnell abgesaugt werden. Lokal kann Kälte auch erzeugt werden, indem Kohlendisäuregas oder Lachgas, welches unter hohem Druck steht, aus einer Düse heraus auf das zu behandelnde Gewebe ausgeblasen wird; dadurch entsteht lokal ebenfalls JOULE-THOMSON-Kälte.

WEICHE beschreibt eine Methode, nach der Kohlendisäure-Schneestabförmig zurechtgeschnitten wird. Die Stäbe werden sodann auf das Gewebe aufgesetzt und können von dort aus sublimieren. Das direkte Aufbringen der Gase ohne Zwischenschalten von abgrenzenden Hüllen bietet den Nachteil, daß der kryochirurgische Effekt auf dem Gewebe nicht so scharf abgegrenzt angesetzt werden kann. Zu diesem Zweck wurden Systeme wie die eben beschriebene COOPER-Sonde entwickelt. Ein Teil der Gase kann aber auch wegen der ihnen innewohnenden chemischen Toxizität nicht direkt auf das Gewebe aufgebracht werden, dazu gehören Freon I und Freon II, bei denen es sich um mit Fluor halogenierte Kohlenwasserstoffe handelt.

Ib, Die Anwendung von phasenstabilen Kryosonden

Bewahrt man das eigentliche Kühlmedium, z.B. flüssigen Stickstoff, isoliert vom Patienten auf, dann kann man massive Metallsonden in den Stickstoff eintauchen, auf -196° abkühlen und anschließend als Kryosonden zur Therapie von Gewebezirkeln verwenden (SCHLÄPPI, CLAUSSEN).

Zwischen der entsprechenden Kryosonde und dem Gewebe entsteht durch Abgabe von Kalorien aus dem Gewebe an die Sonde eine Mischungstemperatur. Dieses Verfahren bietet den Vorzug, daß die Sicherheitsvorkehrungen für die Aufbewahrung und Verwendung des eigentlichen Kältemittels nicht so aufwendig zu sein brauchen wie bei den Sonden mit Gasdurchfluß. Die Kryosonde selbst ist gleichermaßen einfach in der Herstellung und in der Wartung. Hinzu kommt ein großer Preisvorteil.

Nachteile der Methode liegen in der kapazitiven Begrenzung.

Da die festen Sonden nicht durch Schläuche an Aggregate und Tanks gekoppelt sind, sind sie leichter zu handhaben und zu führen. Von vornherein kann die Größe der zu setzenden Läsion besser abgeschätzt werden, da die Sonde ohnehin kapazitiv begrenzt ist. Es entfallen die bei der COOPER-Sonde notwendigen Auftauvorrichtungen für das Gewebe. Die Abschätzung des Umfanges der Gefrierzone ist möglich, wenn man sich in einer stark vergrobernden Modellvorstellung das Gewebe als überwiegend aus Wasser bestehend vorstellt. Zwischen diesem Wasser und der eingeführten Kryosonde stellt sich eine Mischungstemperatur ein, oder, anders ausgedrückt, die auf -196° abgekühlte Kryosonde kann dem Gewebe nicht mehr Wärme entziehen als bis sie auf die gleiche Temperatur wie das Gewebe erwärmt ist ("Überlegungen zur Mischungscharakteristik" s. CLAUSSEN).

Für unsere Versuche war aus einem Sortiment verschieden dicker und verschieden langer Kryosonden die 6 mm dicke und 100 mm lange runde Messingmassivsonde in Vorversuchen als ausreichend herausgesucht worden.

Mit dieser Sonde lassen sich sowohl minimale als auch allerschwerste Veränderungen am Ohrknorpel der Ratte erzielen, so daß sie uns als adäquat für diese Modellversuche erschien.

II. Gewebsveränderungen nach Kryochirurgie

IIa. Makroskopisch.

Nach Applikation der Kryosonde auf das Gewebe kommt es zur Ausbildung einer Eiszone im Gewebe, die auf der Gewebsoberfläche als Eisscheibe erkennbar ist. Wie CLAUSSEN und SCHMIDT festgestellt haben, hängt die Vergrößerung der Eisscheibe mehr von der Aneinanderreihung mehrerer Kryozyklen ab, als daß sie durch die Vergrößerung der Zeitdauer des Aufsetzens der Kryosonde beeinflusst wird.

Diese Beobachtungen werden auch durch die vorliegenden Versuchsergebnisse gestützt (Tab.1).

Dieses Gewebsverhalten steht im Zusammenhang mit dem Durchbrechen von wärmeisolierenden Membranen im Gewebe durch jeden neuen Kryozyklus. Die Erwärmungscharakteristik des Gewebes ändert sich unter Kryozyklen von höherer, strukturbedingter Isolierung zur niedrigeren Isolierung des strukturarmen Wassers (CLAUSSEN, SCHMIDT). Umgekehrt läßt sich das tiefere Eindringen der Kälte mit jedem zusätzlichen Kryozyklus auch an der verlängerten Auftauzeit ablesen (Tab.2).

Nach der Anwendung der Kryochirurgie kommt es lokal im Gewebe zu einem Ödem und einer starken Hyperaemie, die durch Kälte-lähmung der Gefäße bedingt ist. Innerhalb von vier bis sieben Tagen bildet sich die eigentliche Kryo-Nekrose, eine Koagulationsnekrose, heraus, die abgestoßen wird. Daraufhin bildet sich im Abstoßungsbereich das Kryo-Ulcus, welches später narbig verheilt.

Bezüglich der Gewebsverkleinerung wird im Folgenden die matrixartige Anordnung der excidierten Ohrmuscheln diskutiert.

Der Gewebsschaden in Form einer Kryo-Nekroseabstoßung nimmt mit zunehmender Applikation bis zum 5. Kryozyklus zu (Abb.5).

GEWEBSEISZONENDURCHMESSER

TIERE	1 KRYO-Z.	2 KRYO-Z.	3 KRYO-Z.	4 KRYO-Z.	5 KRYO-Z.
1	10	12	14	13	14
2	10	11	13	14	14
3	11	11	13,5	13	14
4	10	11	14	14	14
5	10	12	13	13	13,5
6	10	12	14	14	
7	10	11	13	14	
8	10	12	13	14	
9	10	11	13,5	13	
10	10	11,5	14	14	
11	10	11	13		
12	10	11	14		
13	11	12	13		
14	10	12	13		
15	10	11	13,5		
16	10	12			
17	10	11			
18	10	11,5			
19	10	11			
20	10	11			
21	10				
22	11				
23	10				
24	10				
25	10				
$\bar{x}$	10,1	11,4	13,4	13,6	13,9

Tab. 1

Tabelle der Durchschnittswerte der Eiszonendurchmesser an 25 Rattenohren nach 30 Sekunden Sondenverweildauer bei Applikation von 1 bis 5 Kryozyklen.

GEWEBSAUFTAUZEITEN					
TIERE	1 KRYO-Z.	2 KRYO-Z.	3 KRYO-Z.	4 KRYO-Z.	5 KRYO-Z.
1	80	95	115	120	90
2	70	100	120	120	90
3	85	105	120	120	100
4	90	100	120	115	110
5	80	100	130	120	95
6	75	105	125	120	
7	80	100	115	130	
8	90	105	120	120	
9	80	95	120	120	
10	80	100	105	115	
11	80	105	120		
12	70	100	120		
13	85	100	115		
14	80	90	120		
15	75	100	110		
16	75	95			
17	80	90			
18	60	100			
19	70	100			
20	80	90			
21	80				
22	70				
23	80				
24	75				
25	70				
x	80,1	98,7	118,3	120,0	97,0

Tab.2

Tabelle der durchschnittlichen Auftauzeiten an 25 Rattenohren nach Applikation von 1 bis 5 Kryozyklen.

Je mehr Kryozyklen appliziert werden und je stärker die Nekroseabstoßung erfolgt, um so länger hält die Abstoßung der Kryonekrose an. Somit erstreckt sich das kryochirurgische Phänomen bei Applikation von mehreren Kryozyklen über einen längeren Zeitraum als nur bei Applikation von wenigen Kryozyklen (Abb.14). Der Umfang der Nekrose nimmt deutlich mit der Anzahl der applizierten Kryozyklen zu. Bei der Betrachtung der makroskopischen Veränderungen laufen die klassischen Zeichen einer Entzündung ab.

Die Kapazität der verwendeten Sonde ist so ausgelegt, daß nach Applikation von ein bis zwei Kryozyklen zwar eine Gewebsreaktion mit Abstoßung auslösbar (Abb.15), der Prozeß aber bei makroskopischer Inspektion bereits nach 14 Tagen zur Ruhe gekommen ist.

Die mittlere Spalte, nämlich der Ablauf der makroskopisch sichtbaren Veränderungen nach Applikation von drei Kryozyklen über ein bis 28 Tage enthält Charakteristika der beiden in den Abbildungen 14 und 15 gezeigten Gruppen, was aus der überlappenden Schraffur hervorgeht (Abb.16).

Eine abgeschlossene Wundheilung kann in dem linken unteren gleichschenkligen Dreieck zwischen dem 7. und 28. Tag p.op. und nach der Applikation von ein bis drei Kryozyklen beobachtet werden (Abb.17).

Eine deutliche Gewebsreaktion zeigt sich makroskopisch an den aufgereihten, fixierten Ohren zwischen dem 5. und 28. Tag, abhängig von der Anzahl der applizierten Kryozyklen, nämlich ein bis fünf. Die Reaktionsdauer nimmt mit zunehmender Kryozyklenzahl zu (Abb.18).

Nach Applikation von drei bis fünf Kryozyklen treten deutlich sichtbare Formveränderungen mit Größenreduzierung der Ohrmuscheln zwischen dem 5. und 28. Tag auf.

Die Veränderungen sind nach drei bis vier Kryozyklen nach 14 bzw. 28 Tagen äußerlich weitgehend zur Ruhe gekommen. Histologisch läßt sich das abgestoßene Material natürlich nicht mehr nachweisen. Für den Operationserfolg spielt in der Praxis die Gewebsverkleinerung die größte Rolle. Faßt man unter dem Gesichtspunkt der optimalen Gewebsverkleinerung alle makroskopischen Veränderungen zusammen, so läßt sich feststellen:

Mit Zunahme der Kryozyklen und der postoperativen Dauer, also in Richtung der Hauptdiagonale in dem Matrixschema, kann eine Zunahme der Gewebsverkleinerung beobachtet werden (Abb.19).

Will man diese Gewebsverkleinerung in mehreren Sitzungen unter Anwendung von möglichst wenig Kryozyklen pro Sitzung und möglichst kurzer Zeit der jeweiligen Abstoßungsphase erreichen, so zielen das früheste Reaktionsende, die früheste Gewebsabstoßung und die Verstärkung der Gewebsabstoßung auf einen Punkt hin, der nach drei Kryozyklen zwischen dem 7. und 14. Tag liegt (Abb.20).

IIb. Mikroskopisch.

Die histologischen Versuchsergebnisse werden ebenfalls nach Art einer Matrix zusammengefaßt, wobei in den Zeilen die Ergebnisse nach Anwendung eines, zwei, drei, vier, fünf Kryozyklen und in den Spalten die Überlebensdauer von 1, 5, 7, 14 und 28 Tagen angeordnet sind. Jede Position innerhalb dieser Matrix ist wiederum in eine Mikromatrix unterteilt, wobei die Zeilen nach Geweben geordnet sind: Knorpel, Perichondrium, Muskulatur, Epithel, Bindegewebe und die Spalten nach histologischen Veränderungen, Ödem, zellige Infiltration, Nekrose, Fibrozyten bzw. -blasten, Knorpelapposition, dann erkennt man, daß maschenartig ein Makro- und Mikromatrixsystem ineinander greift (Abb.21).

Abb. 14

Durch die Abdeckung der ersten 3 Spalten sind die beiden Spalten mit 4 und 5 Kryozyklen und starker Gewebszerstörung optisch besonders hervorgehoben.

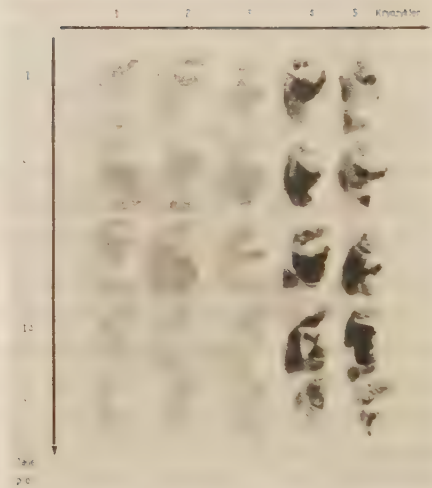


Abb. 15

Durch die Abdeckung der letzten 3 Spalten sind die beiden vorderen Spalten mit 1 und 2 Kryozyklen hervorgehoben. Die Gewebsreaktion mit geringem Gewebsverlust kommt makroskopisch bereits nach 14 Tagen zur Ruhe.

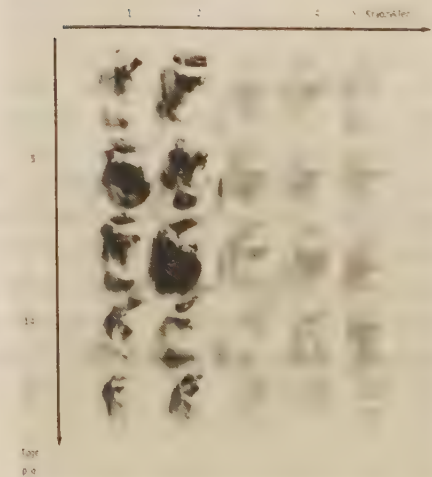


Abb. 16

Durch Abdeckung der ersten beiden und der letzten beiden Spalten ist die dritte Spalte mit 3 Kryozyklen hervorgehoben. Sie enthält die Charakteristika der beiden in den Abbildungen 14 und 15 gezeigten Gruppen.

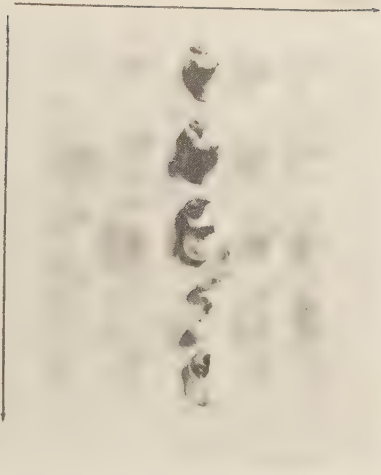


Abb. 17

Durch entsprechende Abdeckung ist das gleichschenklige Dreieck hervorgehoben. Es wird entsprechend der applizierten Kryozyklen 1 bis 3 makroskopisch eine abgeschlossene Wundheilung zwischen dem 7. und 28. Tag sichtbar.

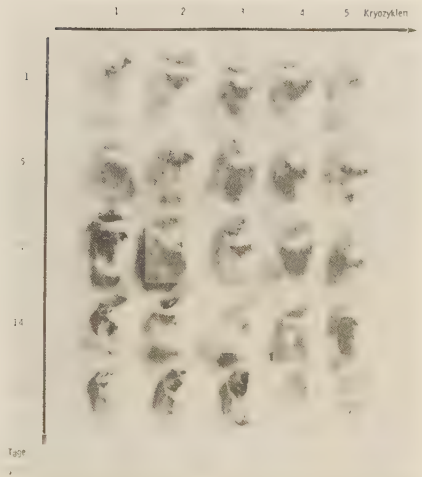


Abb. 18

Durch Abdeckung ist der reaktionsaktive Bereich hervorgehoben. Die Reaktionsdauer nimmt mit zunehmender Kryozyklenanzahl zu.

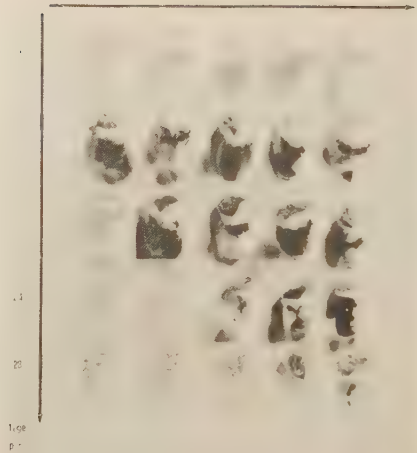
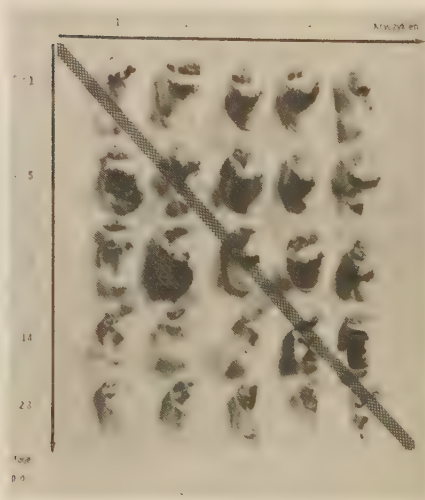


Abb. 19

Darstellung der Hauptdiagonalen auf dem Matrixschema, aus deren Verlauf die Gewebsverkleinerung ersichtlich wird.



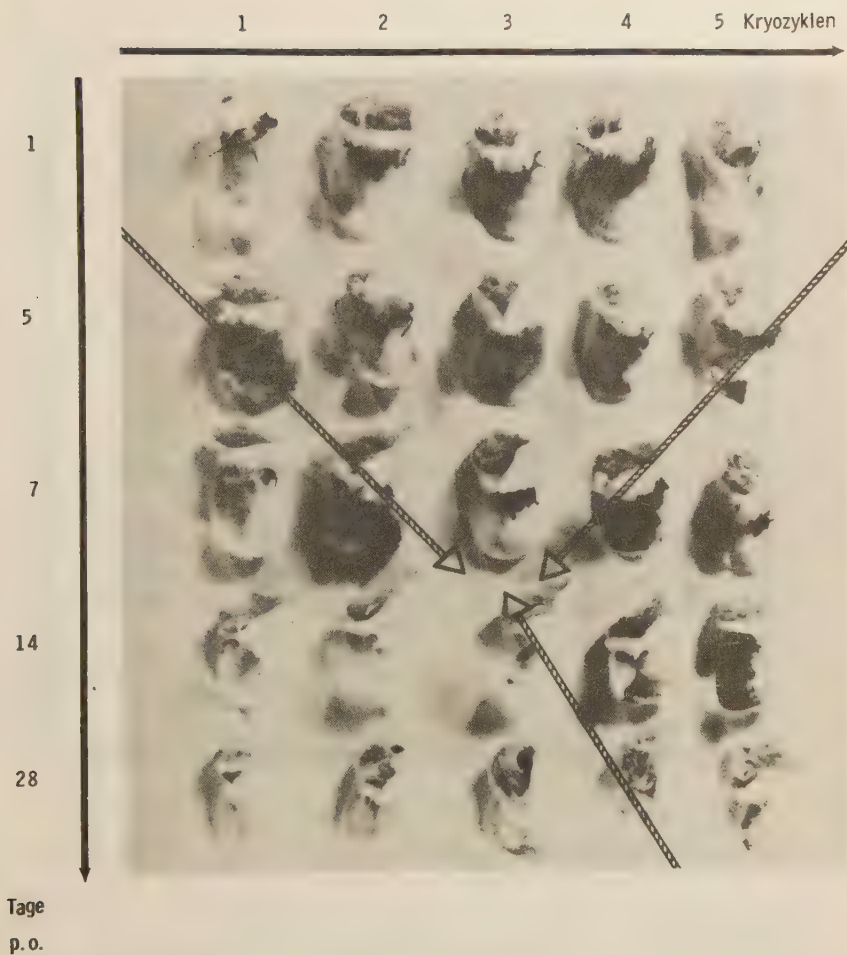


Abb. 20

Kryochirurgischer Optimalpunkt, auf den das früheste Reaktionsende (li.Pfeil), die früheste Gewebsabstoßung (oberer re.Pfeil) und die maximale Gewebsabstoßung (unterer re.Pfeil) hinweisen.

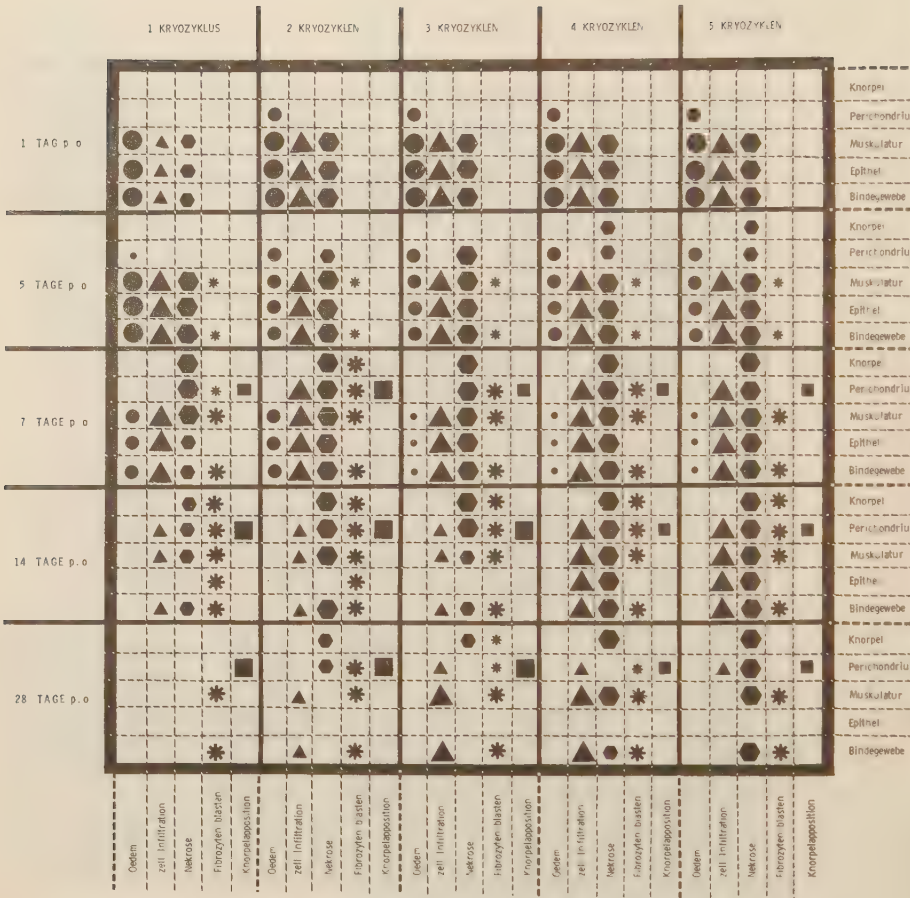


Abb. 21

Schematische Anordnung der Beziehung von Kryozyklen zu Überlebenszeiten in einem Makromatrixschema, in welches jeweils Mikromatrizen des Verhältnisses von Gewebsarten zu Gewebsveränderungen eingefügt sind. Die histologischen Veränderungen werden mit Hilfe reaktionsspezifischer Symbole, die eine grob quantitative Abstufung zeigen, als Einzelposition in den Mikromatrizen aufgeführt.

Am ersten postop. Tage springt als deutlichste Veränderung nach Applikation eines bis fünf Kryozyklen das Ödem in der Muskulatur, dem Epithel und Bindegewebe hervor. Nach zwei bis fünf Kryozyklen kommt es ebenfalls zu einer stärkeren zelligen Infiltration und bereits sich abzeichnenden Nekrose in denselben Ohrmuschelpräparaten. Die Knorpelnekrose als solche tritt nach vier bis fünf Kryozyklen bereits am 5. postop. Tag sichtbar in Erscheinung, während sie in den makroskopischen Präparaten, d.h., nach ein, zwei und drei Kryozyklen erst ab 7. postop. Tag sichtbar ist. Nach einem Kryozyklus zeichnet sich bereits eine Verminderung der Nekrose im Epithel und Bindegewebe am 7. Tage ab. Nach drei bis fünf Kryozyklen persistiert die Nekrose des Bindegewebes am 7. Tag.

Im Bereich des Perichondriums kommt es am 7. Tag nach einem bis fünf Kryozyklen zu einem appositionellen Knorpelneuwachstum. Besonders auffällig ist, daß die Reaktionen wie Ödem, zellige Infiltration und Nekrose nach einem Kryozyklus am 28. Tag abgeschlossen sind. Im Bereich des Bindegewebes und der Muskulatur entstehen Fibrozyten bzw. Fibroblasten nach Art einer Narbe. Im Bereich des Perichondrium bildet sich eine deutliche Knorpelapposition heraus.

Anmerkung: Damit ließe sich innerhalb von 28 Tagen am Ohrknorpel statt einer deutlichen Knorpelverminderung ein Knorpelaufbau durch einen Kryozyklus erzielen.

Am 14. Tag ist eine voll ausgeprägte Knorpelnekrose noch bei den Tieren nach zwei, drei, vier und fünf Kryozyklen zu sehen. Eine deutliche Knorpelapposition ist am 14. postop. Tag nach ein, zwei und drei Kryozyklen zu sehen; eine hochgradige Fibrozyten- und Fibroblastenaktivität findet sich am 14. Tag nach ein und zwei Kryozyklen. Eine aktive Nekroseabstoßung findet sich nach vier und fünf Kryozyklen ebenfalls am 14. Tag.

Damit ist innerhalb des Matrixschemas die Versuchsreihe mit drei Kryozyklen zwischen dem 7. und 14. postop. Tag besonders hervorgehoben. Zwischen dem 7. und 14. Tag kommt es bei diesen Tieren zu einer stärkeren Ausbildung von appositionellem Knorpelneuwachstum und einer Beendigung der Nekroseabstoßung. Bei den Tieren mit vier und fünf Kryozyklen ist selbst am 28. Tag die Nekrosebildung noch nicht abgeschlossen.

Als deskriptives Modell bedienen wir uns graphischer Methoden. Die Ergebnisse der direkten und der histologischen Inspektion aller Versuche werden mittels der Informationsgraphik synoptisch dargestellt, so daß wesentliche postoperative Entwicklungen allein aus der inneren Gestalt und dem Schwärzungsmuster der Matrix abgelesen werden können (Abb.22).

Aus dem Matrixschema der histologischen Ergebnisse (Abb.21) geht genauso wie aus dem Matrixschema der makroskopischen Ergebnisse (Abb.22) deutlich hervor, daß der günstigste Zeitpunkt für die Kryobehandlung von Ohrmuschelknorpel nach drei Kryozyklen während einer Sitzung zwischen dem 7. und 14. Tag liegt, sofern die Ohrmuschel verkleinert werden soll.

Aus dem makroskopischen Schema geht das Ausmaß der Verkleinerung hervor; aus dem histologischen Schema geht die Beendigung der mikroskopisch sichtbaren zellulären Phänomene hervor. Das Schema läßt sich andererseits auch so deuten, daß nach einem Kryozyklus eine überschießende Knorpelneubildungsreaktion innerhalb von 28 Tagen erzielt werden kann, wobei die destruktiven Phänomene völlig zum Erliegen kommen, und die Neubildung im Vordergrund steht. Dieses Phänomen soll hier aufgezeigt werden. Auswirkungen können nur in anderen Arbeiten näher untersucht und evtl. nutzbringend verwendbar gemacht werden. Aus der histologischen Aufarbeitung geht andererseits hervor, daß mit einer Sitzung keine vollkommene Gewebszerstörung zu erzielen ist, daß die Anwendung von zu vielen Kryozyklen zuviel Zeit bis zum Reaktionsende benötigt, so daß

	1 K - Z	2 K - Z	3 K - Z	4 K - Z	5 K - Z	
1 T.p.o.						Knorpel Perichondrium Muskulatur Epithel Bindegewebe
5 T.p.o.						K P M E B
7 T.p.o.						K P M E B
14 T.p.o.						K P M E B
28 T.p.o.						K P M E B
	Oedem zell. Infiltration Nekrose Fibrozyten-blasten Knorpelapoptose	Oe. z.-l. N. Fibro.-z.-bl. Kn.-App.	Oe. z.-l. N. Fibro.-z.-bl. Kn.-App.	Oe. z.-l. N. Fibro.-z.-bl. Kn.-App.	Oe. z.-l. N. Fibro.-z.-bl. Kn.-App.	

Abb.22

Kombiniertes Mikro- und Makromatrixschema. Bezüglich der Gliederung s. Legende Abb.21.

Die grob quantitativen Angaben der versuchsbedingten Gewebsveränderungen erfolgen in dieser Darstellung durch unterschiedliche Rasterflächen. Die Rastersignatur hebt übergeordnete Trends, wie z.B. die Betonung der Hauptdiagonalen, deutlicher hervor als die Verwendung figürlicher Einzelsymbole.

innerhalb derselben Frist auf Grund geometrischer Reihenüberlegungen eine Verkleinerung besser zu erreichen ist, wenn man zwischen dem 7. und 14. Tag jeweils neue Sitzungen mit drei Kryozyklen anberaumat.

E. Schlußbetrachtung

Abschließend soll festgestellt werden, daß im Vordergrund dieser Arbeit modellmäßige Überlegungen des systematischen Aufbaus der verwendeten Tierkapazität und der verwendeten Kältekapazität gestanden haben. Es wurde ein geometrischer Aufbau einer quadratischen Matrix, also einer Determinante, gewählt. Mit Hilfe dieses Aufbaus können die makroskopischen und histologischen Inspektionsbefunde einer Deutung unterzogen werden, die eine Synopsis aller mannigfaltigen Ergebnisse gestattet und die es dem Beschauer ermöglicht, aus grundsätzlich zwei Zusammenstellungen wesentliche Phänomene und Gewebsveränderungen zu abstrahieren.

Aus den Zusammenstellungen geht hervor, daß neben der optimalen Gewebszerstörung ein Phänomen der maximalen Gewebszerstörung und ein entgegenarbeitendes Phänomen der Gewebsneubildung innerhalb der Darstellung zu finden sind.

F. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse der experimentellen Kryochirurgie am Rattenohr ausgewertet. An 25 weißen Rattenböcken vom Stamme Wistar wird die Rückseite des rechten Ohres eines jeden Tieres mit einer kapazitiv begrenzten Messingmassivsonde, die in flüssigem Stickstoff auf -196° C gekühlt ist, behandelt.

Die Ergebnisse der Arbeiten von CLAUSSEN, LENZ und anderen werden hierbei berücksichtigt. Es wird bei der Behandlung der Rattenohren der von CLAUSSEN inaugurierte Kryozyklus in ansteigender Zahl während einer Sitzung angewendet.

Die kryochirurgisch behandelten und in 5 % Formalinlösung fixierten Ohren werden nach der Anzahl der angewendeten Kryozyklen von eins bis fünf und nach den Zeitabständen ihrer Überlebensdauer zwischen 1 und 28 Tagen angeordnet. Es entsteht ein Matrixschema, das allein durch seine Anordnung bemerkenswerte Schlüsse zuläßt. Die histologisch aufgearbeiteten Ohren werden mikroskopisch beurteilt.

Es folgt eine kritische Auseinandersetzung mit dem kapazitiv begrenzten Kryo-Instrumentarium und den dabei zur Anwendung gelangenden Medien. Die phasenstabilen Kryosonden werden mit bekannten Sonden mit Gasdurchfluß im Zusammenhang mit den vorliegenden Modellversuchen verglichen. Sie besitzen den Vorteil der einfachen Konstruktion, des geringen Preises, der völlig freien Handhabung und schließlich die Möglichkeit der Wirkungsdosierung durch die vorauswählbare Aneinanderreihung von Kryozyklen, sowohl zur Gewebszerstörung als auch zur überschießenden Reparatonsleistung.

Für die Versuchsauswertung sind die morphologischen Veränderungen in einem zweidimensionalen Matrixschema angeordnet, wobei die Zahl der angewendeten Kryozyklen und die Überlebenszeit in Beziehung gebracht werden.

Die systematische Deutung dieser Synopsis legt einen Verwendungsplan der Kryochirurgie hinsichtlich optimaler Kryozyklenserien und optimaler Zeitabstände zwischen den einzelnen Behandlungssitzungen offen.

Die makroskopischen und mikroskopischen Matrixstrukturen erscheinen uns als ein mögliches Modell zur Beurteilung der kryochirurgischen Wirkung.

G. Literaturverzeichnis

- ALTMANN, K.** Zur kausalen Histogenese des Knorpels. Ergebnisse. Anat.Entwicklungs-Gesch. 37,1 (1964)
- ARNOLD, M.** Histochemie. Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag 1968
- BAERTHOLD, W. u. SEIDEL, P.** Der Einfluß lokaler extremer Unterkühlung eines Bogenganges auf die Mikropotentiale beim Kaninchen. Arch.Klin.exp.Ohr.-Nas.-u.Kehlk.Heilk. 190, 16-23 (1968)
- BAERTHOLD, W. u. STEINERT, R.** Feingewebliche Untersuchungen nach kryochirurgischen Eingriffen am Bogen-gang. Eine tierexperimentelle Studie. Zschr.f.Laryngologie, Rhinologie, Otologie 47 (1968)
- CAHAN, W.G., MONTESA-CRUZ, A.F.** Cryotonsillectomy in dogs. Arch.Otolaryng. 81,372-378 (1965)
- CLAUSSEN, C.F.** Kryochirurgie an der Zungenspitze. Eine tierexperimentelle Studie. Arch.Klin.exp.Ohr.-, Nas.-Kehlk.Heilk. 192, 304-313 (1968)
- Untersuchungen zur Kryochirurgie. II.Mitteilung: Intra-experimentelle und bioptische Beobachtungen nach einfachen und mehrfachen Kryozyklen mit kapazitiv begrenzten Kryosonden. Z.Laryng.Rhinol. 48, 722-728 (1969)
- CLAUSSEN, C.F., LENZ, H.** Untersuchungen zur Kryochirurgie. III.Mitteilung: Histologische Beobach-tungen. Z.Laryng.Rhinol. 49, 400-407 (1970)
- CLAUSSEN, C.F., SCHMIDT, F.** Untersuchungen zur Kryochirurgie. I.Mitteilung: Messung des Temperatur-verhaltens zwischen Kälteapplikatoren und Gewebe. Z.Laryng.Rhinol. 47, (1968)
- COOPER, I.S.** Cryogenic surgery for cancer. Fed.Proc. 24, 237-240 (1965)
- COOPER, I.S., WALTZ, J.M., GAGE, A.** Cryosurgery for oral and pharyngeal carcinoma. Amer.J.Surg. 118, 669-672 (1969)

- GAGE, A. Cryosurgery for oral and pharyngeal carcinoma.
Amer.J.Surg.118, 669-672 (1969)
- GAGE, A.,
ERICKSON, R.B. Cryotherapy and curettage for bone tumors.
J.Cryosurg.1, 60-66 (1968)
- GAGE, A.,
KOEPE, S. Cryotherapy as primary treatment for oral cancer.
J.Cryosurg.1, 177-183 (1968)
- GOLDSTEIN, J.,
BLEVINS, CH. Cellular and subcellular effects of cryosurgery paper on the first international symposium on plastic and reconstructive surgery of the face and the neck.
Excerpta Med. (im Druck)
- GRIFFIN, C.F.
ET AL. Surgical technique for cryogenic high profile sectomy.
Archives of Oto-Laryngology 82,1 (1965)
- HALL, L.J.,
JACKSON, R.T.,
TURNER, J.S. A histological study of cryotonsillectomy in dogs.
Annals of Otology, rhin. and laryng. (St.Louis) 78, 156-164 (1969)
- HANCKEL, R.W. Further experiences with cryosurgery in otolaryngology.
Laryngoscope (St.Louis) 77, 544-549 (1967)
- HILL, C.L. Preliminary report on cryosurgery in otolaryngology.
Laryngoscope (St.Louis) 76, 100-111 (1966)
- HOUSE, W.F. Cryosurgical treatment of Menière's disease.
Arch.Otolaryng.84, 616-629 (1966)
- HUGGINS, C.E. Preservation of organized tissues by freezing.
Zbl.ges.Chir. 190, 381 (1966)
- LEDEN, H. von Cryosurgery of the head and the neck.
Arch.Otolaryng. 85, 115 (1967)
- LENN, H. Cryogenic destruction of tonsils and adenoids in blood dyscrasias, report of four cases.
J.Cryosurg.2, 212-215 (1969)
- LENZ, H. Experimentelle Kryochirurgie an der Hamsterbackentasche: Makroskopische Beobachtungen.
Arch.Klin.exp.Ohr-,Nas.-u.Kehlk.-Heilk. 196, 208 (1970)

- LENZ, H. Cryosurgery of the cheek pouch of the golden syrian hamster: Physical, vascular, macroscopical and histological observations. Paper on the meeting of the society of Cryosurgery, March 1 - 6, 1971, Hollywood, Florida. Int.J.Surg. Die Kryotonsillektomie. Z.Laryng.Rhinol.50, 166-181 (1971)
- LEWIS, J.S. Cryosurgical management of globus jugulare tumors. Laryngoscope (St.Louis) 77, 912-917 (1967)
- LUTZEYER, W.,
LAMBEROPOULOS, R.,
RAUTENBACH, R.,
WERNER, U. Skalpelli für Kältechirurgie. Medizinal-Markt/Acta Medico Technica 18. Jahrg. Nr.3 (1970)
- LUYET, B. Some aspects of the process of freezing as seen at the molecular level. J.Cryosurg.5, 249 (1970)
- LYNEN, F. Über die Atmung tierischer Gewebe nach dem Einfrieren in flüssiger Luft. Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem. 264, 146-152 (1940)
- MARCOVE, R.C.,
MILLER, Tr. The treatment of primary and metastatic localized bone tumors by cryosurgery. Jama 207, 1890-4 (1969) Illinois
- MILLER, D. Three years experience with cryosurgery in head and neck tumors. Ann.Otol. (St.Louis) 78, 786 (1969)
- MILLER, D.,
METZNER, D. Cryosurgery for tumors of the head and neck. Amer.Acad.Ophthal.Otolaryng. (1969)
- MOLNAR, S.,
UEBEL, H.,
FLACHENECKER, G.,
LANGE, K.P.,
ZIEMANN, I.H. Studien zur Anwendung der Kryochirurgie in der Urologie. Urologe 7, 215-23 (1968)
- NUMA, S.,
RINGELMANN, E. Zur Aufhebung der Zitrataktivierung der Azethylkoenzymacarboxylase durch Kälte. Biochem.Z. 343, 258 (1965)
- ODRICH, R.B. and
KELMAN, C.D. Cryotherapy, a new and experimental approach to the treatment of periodontal disease. J.of the Am.Soc.of Periodontists 5, 313-317 (1966)
- PEARSON, R.W. Clinical experiences with cryotherapy on the head and neck. Laryngoscope (St.Louis) 78, 623-631 (1968)

- RAND, R.W. Stereotactic transphenoidal cryo-hypophysectomy.
Bull.Los Angeles neurol.Soc.8,
29-40 (1964)
- RAND, R.W.,
AMER, J. Stereotactic transphenoidal cryo-hypophysectomy.
Med.Ass.9, 189-255 (1967)
- SCHLÄPPI, P. Zur Therapie des kindlichen Larynx-Papilloms.
Practica oto-rhino-laryngologica 29,
365-370 (1967)
- SCHNELL, J.,
SCHARRER, E. Die Peltier-Kühlung.
Naturwissenschaften 53, 373-378 (1966)
- SCHORMÜLLER, J. Kälte-Biochemie.
Med.Welt 32, 1843-1847 (1967)
- SCHROTT, K.W.,
SIGEL, A.,
SCHMIDT, Th. Das Verhältnis zwischen Sondengröße,
Gefriergeschwindigkeit und Zelltod in
der Kryochirurgie.
Urologe 8, 164-167 (1969)
- STUCKE, K. Tierexperimentelle Untersuchungen zur
Kryochirurgie der Leber.
Langenbecks Arch.Klin.Chir. 316,
914-918 (1966)
- THOMFORD, N.R.,
WILSON, W.H.,
BLACKBURN, E.D.,
PACE, W.G. Morphological changes in Canine Trachea.
Cryobiology Vol. 7, 1 (1970)
- TORRE, D. Cutaneous cryosurgery.
J.Cryosurg.1, 202-209 (1968)
- WEICHE, H.J. Cryosurgery in dermatology.
Physio.Panorama 6, 4-8 (1968)
- WOLFSON, R.J. Über eine neue Methode der Kälte-
Tonsillektomie.
Niedersächs.Ärzteblatt 41 (1968)
- ET AL. Cryosurgery of the Labyrinth-Preliminary
Report of a new Surgical Procedure.
Laryngoscope 76, 733-757 (1966)
- WULLSTEIN, H.,
GERLACH, J.,
UHLEH, H.,
ZEHM, S. HNO-ärztliche Erfahrung mit der opera-
tiven Kälteanwendung.
Dt.med.Wschr.91, 1016-1019 (1966)

ZACARIAN, S.W.,
ADHAM, M.I.

Cryotherapy of Cutaneous Malignancy.
Cryobiology 2, 212-218 (1966)

ZACARIAN, S.A.

Histopathology of skin cancer following
cryosurgery.
Int.J.Surg.54, 4 (1970)

Herrn Priv.-Dozent Dr.med. Claus-Frenz C l a u s s e n
möchte ich für die Aufsicht und die fachliche Beratung
bei der Anfertigung der vorliegenden Dissertation meinen
herzlichen Dank sagen.

L e b e n s l a u f

Am 16. September 1926 in Berlin als Sohn des Bankbeamten Emil Schulz und seiner Ehefrau Getrud, geb. Wendt, geboren.

Nach der Grundschulzeit gehörte ich der Luisenstädtischen Oberschule Berlin bis zur Versetzung in die 8. Klasse an. Mit dem Reifevermerk wurde ich am 22. Juli 1944 zum Wehrdienst einberufen und erlebte die Kapitulation in einem Flensburger Lazarett. Hier war ich auch als Sanitätsdienstgrad bis zum Sommer 1946 tätig. Durch Sonderlehrgänge erwarb ich am 20. September 1947 an der Staatlichen Internatsoberschule Schloß Plön/Holstein meine Hochschulreife. Nach Berlin heimgekehrt Krankenpfleger an der Charité vom 1.11.1947 bis 31.10.1948 bis zu meiner Studienzulassung.

Am 6.11.1948 Beginn des Studiums der Zahnheilkunde an der Freien Universität Berlin; Bestallung als Zahnarzt am 16. Januar 1953. Ab 2.11.1953 Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin. Bis zur ärztlichen Vorprüfung an der Freien Universität Berlin am 30.10.1956 war ich als Zahnarzt 18 Monate an der Kieferchirurgischen Abteilung des Städt. Rudolf-Virchow-Krankenhauses tätig. Die ärztliche Prüfung an der Freien Universität Berlin legte ich am 7.3.60 ab, die Bestallung als Arzt wurde mir am 19. Juli 1961 erteilt.

Vom 1.8. bis 31.12.1961 Assistenzarzt am Städt. Rudolf-Virchow-Krankenhaus, Kieferchirurgische Abteilung, danach bis zum 31.1.1969 auf der HNO-Abteilung des gleichen Hauses.

Die Facharztanerkennung für das Fach Hals-Nasen-Ohren-Krankheiten wurde mir von der Ärztekammer Berlin am 29.8.1966 zugesprochen.

Seit dem 1.2.1969 Oberarzt an der HNO-Abteilung des Städt. Wenckebach-Krankenhauses in Berlin-Tempelhof.

Druck:

Der Präsident der Freien Universität Berlin
- Universitätsdruckerei -

1 Berlin 41, Kelchstraße 31

